

J. Rakuno Gakuen Univ., 28 (2) : 163~165 (2004)

## 新潟県愛鳥センターで飼育されていたガン類の マレック病ウイルス感染に関する予備調査

中 村 茂<sup>1)</sup>・遠 藤 大 二<sup>2)</sup>・佐 藤 準<sup>3)</sup>・浅 川 満 彦<sup>1)</sup>

### Preliminary Survey of Marek's Disease Virus of Wild Geese Kept in Niigata Prefectural Bird Protection Center, Japan

Shigeru NAKAMURA<sup>1)</sup>, Daiji ENDOH<sup>2)</sup>, Jun SATO<sup>3)</sup> and Mitsuhiro ASAKAWA<sup>1)</sup>  
(October 2003)

#### はじめに

2001 年 10 月、北海道美幌市、宮島沼で捕獲された国の天然記念物マガン 1 個体が死亡した。その病理解剖をしたところ、腫瘍病変が認められ、病理組織学および分子生物学的検討からマレック病と診断された<sup>1,3,4,6)</sup>。国内の野生鳥類では初めての報告であり、野生ガン類をはじめとする水鳥類を飼育・展示施設では、マレック病ウイルスの感染状況の把握が希求された。そこで今回、平成 14 年度新潟市佐潟学術研究奨励補助費が採択されたことを機に、限られた検査数ではあるものの、新潟県内の野鳥保護施設に収容されていたガン類 2 種について、緊急的にマレック病ウイルスの予備検査を試みた。

#### 材料と方法

2003 年 9 月 5 日、新潟県内で保護され、北蒲原郡紫雲寺町にある県立愛鳥センターに収容中であったマガン *Anser albifrons* およびヒシクイ *A. fabalis* の各 1 羽から、上尾筒の正羽数枚を採集し、冷蔵保存された状態で、酪農学園大学獣医学部寄生虫学教室に送付された。なお、両種とも国の天然記念物であることから、文化庁等への羽材料に関する使用許可申請も同時に実行した。この材料は、二分され、一方は北海道大学大学院感染症学教室へ、もう一方が本学の放射線学教室にそれぞれ搬入され、マレック病ウイルスの検査が実施された。今回の結果は、本学で行った予備調査について結果を記す。

このウイルスは、ニワトリでは羽軸根部にウイルス粒子が出現する性質があるので、今回も、その性質に準ずるものと想定し、それらの上尾筒を検査材料として、常法に従い、ウイルスゲノムの PCR 法による増幅を試みた<sup>7)</sup>。すなわち、細切した羽軸根部を Protease K (In Vitrogen) により消化後、フェノール抽出を行い、続けてエタノールにより沈澱した。沈殿した DNA を純水に溶解後、プライマー (SORF2F: TGGATTGTTACATGAAGGAA および SORF2R: TCCATCTTAACAGGTTGTGG)<sup>7)</sup> と Taq (Mot Star Taq, Qiagen) を混じ、サーマルサイクラーにかけ PCR 法を行った。マガンの DNA が分散されている事を確認するためには成長ホルモン (GH2) 遺伝子の Exon 2 を増幅するプライマー (GH2F: TGGTCTGTGTTTCACCTCAGC および GH2R: CCGTGTACTGGGAGAAGAGC) を用いた<sup>7)</sup>。

温度条件については、95℃で 15 分 (1 サイクル)、95℃で 30 秒 (30 サイクル)、55℃で 30 秒 (30 サイクル)、72℃で 30 秒 (30 サイクル)、72℃で 7 分 (1 サイクル) および 4℃で 60 分 (1 サイクル) であった。得られたサンプルをローディングバッファーと混合し、TBE バッファーにより緩衝された 2 % アガロースゲルにアプライした。ゲルは泳動後、エチジウムブロミドで染色し、トランスイルミネーター上で写真撮影した。

<sup>1)</sup> 酪農学園大学獣医学部寄生虫学教室

Department of Veterinary Parasitology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido, 069-8501, Japan

<sup>2)</sup> 酪農学園大学獣医学部放射線学教室

Department of Veterinary Radiology, School of Veterinary Medicine, Rakuno Gakuen University, Ebetsu, Hokkaido 069-8501, Japan

<sup>3)</sup> 新潟県愛鳥センター 〒957-0231 新潟県北蒲原郡紫雲寺町

Niigata Prefectural Bird Protection Center, Shiunji-cho, Kita-Kanbara-gun, Niigata 957-0231, Japan

## 結果と考察

今回調査したサンプルにおいては、2個体とも、マレック病ウイルスとして特定されるバンドは認められなかったため(図1),感染は証明されなかった。しかし、マレック病ウイルスが感染する種は、野鳥や展示動物を含め、宿主域が非常に広いとされるので<sup>1-3)</sup>,愛鳥センターで採集した他の羽材料についても、準備が整い次第、検査を行いたい。

概して野鳥、特に今回のように天然記念物などのような保護動物は、材料の特殊性などから十分なサンプル数を得ることは難しい。よって、通常公表されることが少ない陰性結果ではあっても、積極的に残すことは、野生動物医学的データの蓄積上、不可欠である。また、マレック病のみならず、全般的な感染症対策も野生鳥類の保全における重要な項目の一つと見なされつつある一方<sup>3,5)</sup>,その具体的な対処方法は示されず、野鳥の飼育管理者の不安は相当なものとなりつつある。このような不安を可能な限り軽減するためにも、積極的な調査を展開することもこれからの獣医大学に課せられた責務であろう。

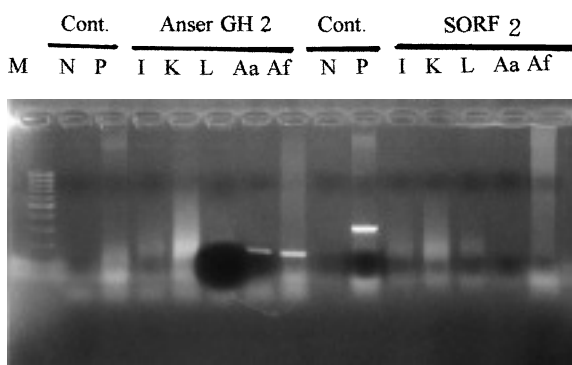


図1 新潟愛鳥センターに収容されたマガン(Aa)およびヒシクイ(Af)の羽軸を用いたマレック病ウイルスのDNA(Anser GH2とSORF 2)を標的にしたPCR法検査による陰性結果。  
M:分子量マーカー, N:陰性対象, P:陽性対象 I:腸管, K:腎臓, L:肝臓, Anser GH2:ガチョウ成長ホルモン, Cont:ニワトリヒナ繊維芽細胞。

Fig. 1 Negative prevalence result of Marek's disease of *Anser albifrons* (Aa) and *A. fabalis* (Af) kept in Niigata Prefectural Bird Protection Center with by PCR method. M: Molecular marker; N: negative control, P: positive control. I: intestine, K: kidney, L: liver, Anser GH2: growth hormone of goose, Cont: chicken embryo fibroblasts.

## 謝 辞

本調査研究は、冒頭紹介した平成14年度新潟市佐潟学術研究奨励補助費のほか、文部科学省科研費研究(No. 14560271),平成14年度酪農学園大学共同研究補助金および平成15年度環境省環境技術開発等推進事業の一環で実施されたものである。

## 引用文献

- 1) 浅川満彦. 2002. 北海道宮島沼におけるマレック病感染マガン. ラムサールシンポジウム新潟実行委員会 編 第2回ラムサールシンポジウム新潟: 78-80. 新潟市環境対策課, 新潟.
- 2) 浅川満彦. 2003. ロシア・カムチャツカ半島におけるガン類の野生動物医学調査—生態学と獣医学の接点の一事例として. 獣医畜産新報, 56: 62-67.
- 3) Asakawa M., Nakamura S. and Brazil M.A. 2002. An overview of infectious and parasitic diseases in relation to the conservation biology of the Japanese avifauna. J. Yamashina Inst. Ornithol. 34: 200-221.
- 4) Chang, K. S.・大橋和彦・李 成一・村田史郎・浅川満彦・小沼 操. 2002. 北海道宮島沼で死亡したマレック病感染マガン腫瘍組織からの meq 遺伝子の検出. 第134回日本獣医学会大会講演要旨集: 134. 岐阜大学.
- 5) Friend, M. and Franson, J. C. (eds.). 1999. Field Manual of Wildlife Diseases. USGS. Washington D.C., USA.
- 6) 酪農大野生動物医学グループ・富川 徹・大橋和彦・小沼 操. 2001. 北海道宮島沼におけるマレック病感染マガン. Zoo and Wildlife News (日本野生動物医学会) (13): 28-29.
- 7) Ui, M., Endoh, D., Cho, K. O., Kon, Y., Iwata, A., Maki, Y., Sato, F. and Kuwabara, M. 1998. Transcriptional analysis of Marek's Disease Virus (MDV) genes in MDV-transformed lymphoblastoid cell lines without MDV-activated cells. J. Vet. Med. Sci., 60: 823-829.

### Summary

As one of coservational researchs of wild avian species, a preliminary examination of prevalence of Marek's disease virus was performed for *Anser albifrons* and of *A. fabalis* kept in Niigata Prefectural Bird Protection Center by polymerase chain reaction in September, 2002, but no amplified was shown.